Ueber die

Zuverlässigkeit der Nylander'schen Wismuth-Probe beim Nachweis von Zucker im Harn.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

unter dem Präsidium des

Herrn Professor Dr. Bollinger

der

hohen medizinischen Fakultät

der

k. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gustav Nagler,
cand. med.

München, 1886.

K. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn.

Ueber die

Zuverlässigkeit der Nylander'schen Wismuth-Probe beim Nachweis von Zucker im Harn.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

unter dem Präsidium des

Herrn Professor Dr. Bollinger

der

hohen medizinischen Fakultät

der

k. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gustav Nagler,
cand. med.

München, 1886.

K. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei Dr. C. Wolf & Sohn.

Ueber die

Zuverlässigkeit der Nylander'schen Wismuth-Probe beim Nachweis von Zucker im Harn.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

vorgelegt der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

Gustav Nagler

aus Ansbach

München, 1888.

Seiner Mutter

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

der Verfasser.

Auf der Eigenschaft des Traubenzuckers, in alkalischer Lösung sehr leicht Sauerstoff aufzunehmen und so als kräftiges Reduktionsmittel zu wirken, beruhen die Traubenzuckerproben. Von den verschiedenen Methoden, welche gegründet auf diese Eigenschaft des Traubenzuckers zu dessen qualitativem Nachweis im Harne angegeben wurden, haben wohl nur zwei allgemeine Anwendung gefunden, die Trommer'sche und die Wismuthprobe von Böttcher. Erstere beruht auf der Reduktion von Kupferoxyd und Ausscheidung von Kupferoxydul aus dem durch Natronlauge alkalisch gemachten Harne, letztere auf der Reduktion von Wismuthoxyd. Nach der Vorschrift von Böttcher soll der auf Traubenzucker zu prüfende Harn bei Siedehitze mit kohlensaurem Natron gesättigt werden, worauf eine Messerspitze basisch salpetersauren Wismuthoxyds hinzugefügt und einige Minuten gekocht wird. Ist Zucker vorhanden, so wird die Flüssigkeit durch Reduktion des Wismuthoxyds zuerst grau, dann schwarz. Kleinere Zuckermengen von circa 0,1 pCt. abwärts lassen sich jedoch durch die Böttcher'sche Probe nicht mehr nachweisen.

Als Modifikation des Verfahrens nach Böttcher wurde sodann eine alkalische Lösung von Wismuthoxyd angegeben. Man bereitet dieselbe, indem man eine salpetersaure Wismuthlösung mit einem grossen Ueberschuss von Natronlauge fällt und tropfenweise unter gelindem Erwärmen so lange

eine Weinsäurelösung hinzufügt, bis der entstandene Niederschlag eben wieder gelöst ist. Almén änderte das Reagens in der Weise ab, dass er 4 gr Seignettesalz in 100 ccm Kalilauge von 1,33 spez. Gew. unter gelindem Erwärmen löst und so lange basisch salpetersaures Wismuthoxyd hinzufügt, als sich noch löst, wozu etwa 2 gr erforderlich sind. Anschliessend an diese Angabe von Almén prüfte Nylander*) unter Hammersten's Leitung die Empfindlichkeit und Brauchbarkeit einer alkalischen Wismuthlösung zum Nachweis von Traubenzucker im Harn. Nylander stellte das Reagens in der Weise her, dass es neben wechselnden Mengen von Natriumhydroxyd 2 pCt. basisch salpetersaures Wismuth und 4 pCt. Seignettesalz enthielt. Als Resultat der Versuche gibt Nylander an, dass das Reagens die grösste Empfindlichkeit dann erreicht, wenn es 8 pCt. Natriumhydroxyd enthält und zu 1 Vol. Harn 0,1 Vol. der Reagenslösung gegeben werden. Ein höherer Gehalt an Natriumhydroxyd setzt die Empfindlichkeit des Reagens herab, ebenso auch ein steigender Zusatz des Reagens.

Die Vorschrift zur Bereitung der Nyl. Reagensflüssigkeit würde also folgendermassen lauten:

4,0 Seignettesalz

werden gelöst in

100 ccm Natronlauge von 8 pCt.

Die Lauge wird mässig erwärmt und

2,0 Bismuth. subnitric.

hinzugefügt; nach dem Erkalten wird von dem ungelöst gebliebenen Reste des Wismuthsalzes abgegossen und nötigenfalls durch Glaswolle filtrirt.

Zur Ausführung der Probe versetzt man 5 ccm Harn mit 0,5 ccm der Reagenslösung und kocht einige Minuten.

Wenn bei der Bereitung der Nyl. Wismuthlösung nach der angegebenen Vorschrift verfahren und besonders auf

*) Zeitschr. für physiolog. Chemie. Jahrg. 1884. S. 175.

den Gehalt an Natriumoxyd geachtet wird, so soll sich der Zucker noch bei einem Gehalt von 0,025 pCt. im Harne nachweisen lassen. Bei einem Zuckergehalt von 0,1 pCt. soll die gleichzeitige Gegenwart von Eiweiss erst bei 0,3 pCt. störend wirken. Die Reagenslösung ist nach der Beobachtung Nylander's mindestens ein halbes Jahr lang haltbar.

Die Vorteile der Nylander'schen Probe vor der Trommer'schen würden darin bestehen, dass weder Harnsäure, noch Kreatinin oder andere nicht näher bekannte Harnbestandteile reducirend auf Wismuthoxyd einwirken, dass die Ausführung der Probe eine einfachere und die Empfindlichkeit eine grössere ist. Auch die lange Haltbarkeit der Reagenslösung ist als ein Vorzug zu bezeichnen.

Wenn nun auch die Thatsache festgestellt ist, dass weder Harnsäure noch Kreatinin reducirend auf Wismuthoxyd einwirken, so wird doch die Frage noch zu erledigen sein, können im Harn nicht Stoffe z. B. nach Genuss von Arzneimitteln vorkommen, welche die Zuverlässigkeit der Nyl. Probe beeinträchtigen und Zucker vortäuschen.

Salkowski ist dieser Frage bereits näher getreten und berichtet darüber im Centralblatt für die med. Wissensch.*):

„Kürzlich hatte ich Gelegenheit, einen Harn zu untersuchen, der nach Angabe des einen Untersuchers Zucker enthalten sollte, während andere dies in Abrede stellten. Der Harn an zwei aufeinanderfolgenden Tagen untersucht gab bei der Nyl. Probe starke Schwärzung, während die Trommer'sche Probe und die Gährungsprobe negativ ausfielen. Da der Harn reich an Rheumfarbstoff war, so kam ich auf die naheliegende Vermutung, dass die Gegenwart von irgend welchen Rhabarber-Bestandteilen, vielleicht von Chrysophansäure, die Ursache der Pseudoreaktion sein könnte. Ich veranlasste den Patienten, den Gebrauch des Rheum auszusetzen und in der That gab nunmehr der genau unter

*) Jahrg. 1885. Nr. 25.

denselben Bedingungen gesammelte Harn keinerlei Reaktion mehr mit Nylander'scher Wismuthlösung (ebenso fiel natürlich die Trommer'sche und die Gährungsprobe negativ aus.)

Zur Kontrole wurden 5 gr Rad. Rhei pulv. mit Wasser einige Zeit gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und filtrirt. Vom Filtrat wurden 10 ccm, respektive 4 ccm und 2 ccm (Nr. 1, 2, 3) zu je 150 ccm eines Harnes, der sich als zuckerfrei erwiesen hatte, zugesetzt.

Nr. 1 entspricht bei Annahme einer 24 stündigen Harnmenge von 1500 gr einer Tagesdosis von 2,5 gr Rad. Rhei, wenn alle in Betracht kommenden Bestandteile in den Harn übergingen.

Nr. 1 gab bei der Anstellung der Reaktion intensive Schwärzung, auch 2 noch starke Schwärzung, bei Nr. 3 erschien der nach dem Kochen sich absetzende Niederschlag grau. Ebenso wurde auch in einigen anderen nach Rheumgebrauch entleerten Harnen eine positive Reaktion mit Wismuthlösung erhalten."

Diese Beobachtungen Salkowski's sind hinreichend, um die Unzulässigkeit der Nylander'schen Probe bei Gegenwart von Rheumfarbstoff zu beweisen. Wenn auch irgend erhebliche Quantitäten von Rheumfarbstoff sich durch die rötliche Färbung, welche der Harn bei Zusatz des Reagens annimmt, zu erkennen geben, so ist doch bei grösserer Verdünnung diese Färbung zu wenig ausgeprägt, als dass sie nicht übersehen werden könnte.

Bevor ich nun mit den Untersuchungen, ob nicht auch andere Arzneimittel derartige störende Wirkungen entfalten, begann, hielt ich es für zweckdienlich, mich noch von der Empfindlichkeit der Nyl. Probe bei niederem Zuckergehalt (bis zu 0,025 pCt. herab) zu überzeugen und dabei ein Zeitmass festzustellen, innerhalb dessen eine Reduktion erkennbar wird.

Zn diesem Zwecke bereitete ich aus normalem Harn

und genau abgewogenen Mengen Traubenzuckers, der nach der Methode von Soxhlet*) vollkommen rein dargestellt war, Zuckerharne von 0,1 pCt., 0,05 pCt. und 0,025 pCt. Der 0,1 pCt. Zuckerharn mit Nyland. Reagens versetzt färbt sich nach 15 Sekunden langem Kochen dunkler und erscheint am Ende der 2. Minute im auffallenden Lichte schwarzgrau; nach einigem Stehen fällt ein schwarzer Niederschlag zu Boden.

Kocht man den 0,05 pCt. Zuckerharn 2 Minuten lang mit dem Reagens, so wird die Flüssigkeit unbedeutend dunkler und setzt sich nach kurzem Stehenlassen ein grau gefärbter Niederschlag ab. Kocht man hingegen bis zum Ende der 3. Minute, so ist keine weitere Veränderung zu bemerken, als dass Flüssigkeit und Niederschlag etwas dunkler gefärbt sind. Der Niederschlag, welcher nach einer Kochzeit von 5 Minuten aus dem 0,05 pCt. Zuckerharn zu Boden fällt, ist dunkelgrau.

Ein Harn von 0,025 pCt. Zuckergehalt mit dem Nyland. Reagens versetzt und 3 Minuten gekocht erleidet fast keine Veränderung, der sich absetzende Niederschlag ist nahezu farblos. Erst nach 5 Minuten währendem Kochen setzt sich ein grauer Niederschlag ab, während die Flüssigkeit kaum verändert erscheint.

Diese Versuche bestätigen die Angaben Nylander's, dass sich mit der nach seiner Vorschrift bereiteten Reagensflüssigkeit Zucker im Gehalte von 0,25 pro mille nachweisen lässt, zugleich ist aber auch daraus ersichtlich, dass bei so geringen Zuckermengen die Reaktion erst nach längerem Kochen eintritt. In der Praxis dürfte ein so geringer Zuckergehalt des Harns wohl weder für Arzt noch Patienten eine Bedeutung haben.

Unter den pathologischen Bestandteilen des Harns spielt

*) Journal für prakt. Chemie 21, 289.

die Rolle das Eiweiss Bei Anwendung der Böttcher'schen Zuckerprobe musste auf die Gegenwart von Eiweiss im Harn stets Rücksicht genommen werden, da in diesem Falle durch Bildung von Schwefelwismuth leicht Irrtümer entstehen konnten.

Brücke*) empfahl daher für solche Harne folgende Modifikation der Böttcher'schen Probe: „Frisch gefälltes basisch salpetersaures Wismuthoxyd wird in einer heissen Jodkaliumlösung gelöst und einige Tropfen Salzsäure zugefügt. Mit diesem Reagens fällt man den mit Salzsäure angesäuerten Harn. Das Filtrat wird, nachdem man sich überzeugt hat, dass die Fällung vollständig war, mit Kali übersättigt und samt dem entstandenen Niederschlag von Wismuthoxyd zum Kochen erhitzt."

Wie schon oben erwähnt gibt Nylander an, dass die gleichzeitige Gegenwart von Eiweiss neben 0,1 pCt. Zucker erst dann den Nachweis mit der Wismuthprobe störe, wenn das Eiweiss zu circa 0,3 pCt. vorkommt; 0,2 pCt. Eiweiss geben noch eine gute und 0,1 pCt. Eiweiss eine sehr schöne Reaktion, auch wenn daneben nur 0,1 pCt. Zucker sich findet.

Nach den Versuchen, die Nylander mit zuckerfreien aber eiweisshaltigen Harnen anstellte, kommt er zu dem Resultate, dass erst bei sehr grossem Eiweissgehalte (1 bis 2 pCt.) die Niederschläge so stark dunkel gefärbt sind, dass von einer möglichen Verwechslung mit Zucker die Rede sein kann. Diesen Prozentsatz muss ich nach den eigenen Versuchen für zu hoch gegriffen halten. Zum Zwecke der Untersuchung bereitete ich mir, wie es auch Nylander gethan, aus normalem Harn und Blutserum (mit 7,5 pCt. Eiweiss) eiweisshaltige Harne von 0,2—0,5 pCt. und stellte mit diesen Harnen die Nyland. Kochprobe an.

Ein auf die angegebene Weise bereiteter Harn von

*) Wien, acad. Sitzungsber. 1875 Bd. 62. 2. Abt. Juniheft.

0,2 pCt. Eiweiss mit Nylander's Reagens versetzt und drei Minuten gekocht scheidet nach dem Erkalten einen rotbraunen Niederschlag ab. Ebenso verhält sich ein Harn mit 0,3 pCt. Eiweissgehalt, während die Farbe des Niederschlages bei der gleichen Kochzeit und einem Gehalt von 0,4 pCt. dunkelrotbraun und endlich auf 0,5 pCt. erhöht schwarzbraun erscheint.

Eine Tänschung scheint mir danach wenigstens für den minder Geübten schon bei einem Eiweissgehalt von 0,5 pCt. nicht ausgeschlossen und dürfte es wohl das Ratsamste sein, in allen Fällen, in denen eiweisshaltige Harne mit der Nyland. Probe auf Zucker untersucht werden sollen, vorher das Eiweiss abzuscheiden.

Nachdem Salkowski die Unzulässigkeit der Nylanderschen Wismuthprobe bei Gegenwart von Rheumfarbstoff im Harn nachgewiesen, lag der Verdacht nahe, dass auch noch das eine oder andere Arzneimittel in den Harn übergehen und ein ähnliches Verhalten wie Rhabarber zeigen könnte. Um derlei Bedenken zu heben oder zu bestätigen, gab es zwei Wege. Entweder konnte ich normalen Harn mit den verschiedenen Arzneimitteln versetzen und so prüfen, oder den Harn von Patienten, welchen diese Arzneimittel verordnet worden waren, zur Untersuchung verwenden. Letztere Art schien mir deshalb die richtigere, weil ja möglicher Weise auch Zersetzungsprodukte der Medikamente in den Harn übergehen und als solche die Wismuthprobe stören konnten.

Die Untersuchungen wurden im chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes unter Leitung des Herrn Professor Tappeiner ausgeführt und stand mir durch die Güte des Herrn Geheimrat von Ziemssen reichliches Material aus dem städtischen Krankenhause zu Gebote. Die Reagensflüssigkeit wurde nach der oben angegebenen Vorschrift bereitet und die Kochzeit nicht über 5 Minuten aus-

gedehnt. Aus naheliegenden Gründen beschränkte ich mich bei der Auswahl der Arzneimittel auf solche organischer Natur, untersuchte den Harn des betreffenden Patienten wenn möglich auch vor Darreichung des Medikamentes und nach Gebrauch desselben an den zwei folgenden Tagen. Das Verhalten der einzelnen Arzneimittel wurde stets in einer Anzahl von Fällen geprüft.

Es erwies sich nun die Nylander'sche Probe nach Anwendung von Fol. Digitalis, Morphium, Salicylsäure, Rad. Senegae, Cort. Quillajae, Cort. Condurango als vollkommen zuverlässig, indem auch nach 5 Minuten langem Kochen keine Reduktion des Wismuthoxyds eintrat. Dagegen zeigte es sich, dass nach Gebrauch zweier anderer Arzneimittel bei Anwendung des Nyl. Reagens eine Täuschung nicht ausgeschlossen sein dürfte.

Bekanntlich wurde von Knorr der Arzneischatz durch ein neues Antifebrile, das Antipyrin bereichert, welches im hiesigen Krankenhause häufig Verwendung findet. Als ich nun den Harn von einem an Typhus abdominalis Erkrankten, der am Abend vorher Antipyrin erhalten hatte, mit dem Nyl. Reagens zwei Minuten lang kochte, war die Flüssigkeit im auffallenden Lichte schwärzlich, der Niederschlag setzte sich rasch zu Boden und war rein schwarz gefärbt. Durch die Worm-Müller'sche Probe konnte die Gegenwart von Zucker nicht konstatirt werden. Der Harn wurde hierauf mit Hefe zur Gährung angesetzt. Der vergohrene Harn zeigte mit dem Nyl. Reagens nach der gleichen Kochzeit dasselbe Verhalten wie vorher und konnte also die Reduktion nicht durch Zucker bedingt sein.

Durch diese auffallende Erscheinung veranlasst untersuchte ich den Harn von circa 30 Fieberkranken, denen Antipyrin verordnet worden war. Die Farbe der Harne war in der Regel rotbraun, doch ist die dunklere Färbung jedenfalls nicht durch das Antipyrin bedingt. Wenn Eiweiss vor-

handen war, so wurde dasselbe vor Anstellung der Probe abgeschieden. In diesen mit dem Nyl. Reagens geprüften Harnen trat bald mit grösserer, bald mit geringerer Intensität die Schwärzung auf, während der Zeitpunkt des Beginnes der Reaktion zwischen einer halben bis 4 Minuten schwankte. Erhielten die Kranken mehrere Tage kein Antipyrin mehr, so fehlte auch der reducirende Körper im Harn. Verschiedene Male hatte ich auch Gelegenheit den Harn zu untersuchen, bevor Antipyrin gereicht wurde, und konnte ich dabei mit dem Nyl. Reagens keine Schwärzung beobachten, wohl aber einen Tag nach der Darreichung des Antipyrin. Dass bei allen positiven Reaktionen mit Nyl. Reagens stets auch die Worm-Müller'sche oder die Gährungsprobe versucht wurde und dadurch der Nachweis von Zucker nicht erbracht werden konnte, bedarf wohl keiner weiteren Erwähnung.

Zur Kontrole löste ich Antipyrin in normalem Harn und kochte mit Nyl. Reagenslösung. Hier blieb aber die erwartete Reaktion aus und war also auf diesem Wege ein Beweis nicht zu erbringen, sondern es musste angenommen werden, dass die Reduktion in diesem Falle durch ein Zersetzungsprodukt des Antipyrin im Organismus zu Stande komme. Es war nun aber noch fraglich, ob sich dieses Zersetzungsprodukt des Antipyrin nur bei Fieberkranken bildet oder ob auch der gesunde Organismus dazu befähigt ist.

Um diese Frage beantworten zu können, prüfte ich den eigenen Harn an zwei aufeinanderfolgenden Tagen vermittelst der Nyl. Probe und als ich nicht die geringste Schwärzung des Niederschlages wahrnehmen konnte, nahm ich Abends eine Dosis von 3 gr Antipyrin. Der Magenharn zeigte in der Farbe keine Veränderung, dagegen ergab die Nyl. Probe nach 4 Minuten langem Kochen einen grauen Niederschlag, ebenso verhielt sich der Abendharn, nur war der Niederschlag und auch die Flüssigkeit dunkler gefärbt. Die stärkste

Reduktion fand ich bei dem Morgenharn des zweiten Tages, indem sich nach 3,5 Min. langem Kochen aus der schwärzlichen Flüssigkeit ein rein schwarzer Niederschlag zu Boden senkte. Die Worm-Müller'sche Probe ergab auch hier ein negatives Resultat. Am 3. Tage konnte der Niederschlag nur mehr als grau bezeichnet werden.

Ein analoger Versuch, den ich bei einem Kollegen anstellte, führte zu denselben Resultaten und glaube ich dadurch den Beweis geliefert zu haben, dass nach Genuss von Antipyrin irgend ein Zersetzungsprodukt desselben in den Harn übergeht, welches bei Anwendung der Nyland. Probe Zucker vortäuschen kann.

Ein zweiter Fall, den ich erwähnen muss, bildet eigentlich nur eine Ergänzung zu der Mitteilung von Salkowski über den Rheumharn. Bei der nahen Uebereinstimmung einiger Bestandteile der Fol. Sennae und der Rad. Rhei konnte es nicht sehr überraschen, wenn der Harn bei Gegenwart von Sennafarbstoff mit dem Nyland. Reagens geprüft starke Schwärzung gab, die Worm-Müller'sche und die Gährungsprobe dagegen negativ ausfielen.

Die Kontrole war hier leicht, indem ein normaler Harn mit Sennainfus versetzt bei Anstellung der Wismuthprobe eine intensive Schwärzung zu Stande kommen liess, sowie auch der früher reducirende Harn nach Aussetzen des Gebrauches von Senna wieder normales Verhalten zeigte.

Dass die Gegenwart von Chrysophansäure im Harn wenigstens zum Teil dessen reducirende Eigenschaft bedingt, ist daraus ersichtlich, dass Chrysophansäure in normalem Harn gelöst beim Kochen mit der Wismuthlösung eine intensive Schwärzung zu Stande kommen lässt.

Es erübrigt mir noch über das Verhalten der aus den verschiedenen Harnen durch Kochen mit Nylander's Reagens gewonnenen schwarzen Niederschläge zu berichten, wenn dieselben längere Zeit bei Zimmertemperatur stehen bleiben,

ohne dass die Flüssigkeit abgegossen oder abfiltrirt wird. Es tritt dann bei allen eine Entfärbung ein. Dabei fällt es nicht schwer zu unterscheiden, ob der Niederschlag von einem Zuckerharn oder von einem Rheumharn resp. Sennaharn stammt. Während ersterer allmälig abblasst und zuletzt eine schmutziggelbe Farbe annimmt, werden die Niederschläge, welche von Rheum- beziehungsweise Senna-Harnen herrühren, zuerst rot (im Reagensglas schon nach wenigen Tagen), um dann auch diese Farbe zu verlieren und weiss zu werden.

Der aus dem Antipyrinharn gewonnene Niederschlag entfärbt sich allmälig, zu gleicher Zeit bilden sich an der Oberfläche der Flüssigkeit Krystalle, welche zu Boden sinken. Der Form nach sind diese Krystalle entweder Nadeln mit schräg abgestutzten Enden, oder es sind dachziegelförmig übereinander gelagerte Tafeln. Die Nadeln sind häufig in Rosetten und Büscheln gruppirt.

Der quantitative Nachweis, ob in den schwarzen Niederschlägen das Wismuth als Metall oder als Oxydulverbindung vorhanden sei, gelang nicht, weil beim Auswaschen mit verdünnter Essigsäure bereits eine teilweise Oxydation eintrat. Gerade dieser Umstand, sowie die vollständige und verhältnismässig leichte Löslichkeit in Salzsäure dürfte aber gegen metallisches Wismuth sprechen.

Nach dem Mitgeteilten unterliegt es wohl keinem Zweifel, dass die Nylander'sche Wismuthprobe nach Gebrauch von Rheum, Senna und Antipyrin keine Anwendung finden kann. Ob die Zahl dieser Arzneimittel nicht noch vermehrt wird, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Zum Schlusse fühle ich mich verpflichtet, Herrn Prof. Dr. Tappeiner für die gütige Unterstützung, welche mir derselbe während der Ausarbeitung in reichlichstem Masse zu Teil werden liess, sowie Herrn Prof. Dr. Bollinger für die Uebernahme des Präsidiums meinen tiefgefühltesten Dank auszusprechen.